

Mission de Yves Prin à Singapour et Sarawak

Projet Cirad-forêt / NTU et essais de terrain

11 au 19 Mai 2001

Liste des personnalités rencontrées :

- Mr Jean Weber : étudiant PhD NTU/NIE Singapour/thèse Univ. Nancy.
- Dr Tham Foong Yee : Enseignante NTU/NIE Singapour.
- Mr Patrick Durand : Délégué Régional pour l'Asie et le Pacifique, CIRAD, France.
- Mr Dominique Aymer de la Chevalerie : Attaché Scientifique et Technologique, Ambassade de France à Singapour.
- Mme Laure Bourdarot : Conseiller pour la Coopération et l'Action Culturelle, Ambassade de France à Singapour.
- Dr Barney Chan : General Manager, Sarawak Timber Association, Kuching, Sarawak.
- Mr John Keen Chubo : Research Officer, Sarawak Timber Association, Kuching, Sarawak.
- Mrs Marini Haryati Husin : Research Officer, Sarawak Timber Association, Kuching, Sarawak.

Déroulement de la mission :

Vendredi 11 mai : départ Montpellier 10h00

Samedi 12 mai : arrivée Singapour 07h45. Rencontre de Jean Weber, visite du nouveau campus et du laboratoire de NTU/NIE à Jurong. Discussions.

Lundi 14 mai : Campus NTU Jurong. Travail sur projet de plaquette illustrée sur les TQS plus protocole d'essai terrain pour la Sarawak Timber Association (STA). Rencontre et discussion avec le Dr Tham Foong Yee.

Mardi 15 mai : Rencontre P. Y. Durand (Elizabeth Hotel). Visite chez Olympia travel pour retrait des billets AR Singapour-Kuching. Campus NTU Jurong : finalisation de la plaquette TQS et du protocole terrain. Visite des serres. Visite à l'ambassade de France, discussion avec Mr Dominique Aymer de la Chevalerie, rencontre de Madame Laure Bourdarot. Retour à NTU pour tirage et reliure des plaquettes et des protocoles.

Mercredi 16 mai. Départ pour Kuching (PYD, JW et YP). Visite STA, rencontre avec Mr Barney Chan, John Keen Chubo and Marini Haryati Husin. Visite du Timber Museum au Sarawak Timber Industry and Development Corporation. Récolte racines et nodules Casuarina (*Gymnostoma*, en fait) devant le STIDC. Retour sur Singapour.

Jeudi 17 mai. Campus NTU Jurong : discussion avec J. Weber. Visite à la serre : état des besoins en matériel et équipements. Discussion avec Dr T.F. Yee sur le protocole terrain et le programme de J. Weber.

Vendredi 18 mai. Ancien campus NTU Bukit Timah : visite des essais *Acacia mangium*, récolte de matériel (racines, graines immatures). Récolte de racines *Gymnostoma* .

Campus NTU Jurong : discussion avec J. Weber et Dr T.F. Yee. Départ Singapour 22h45.

Samedi 19 mai. Arrivée Montpellier 9h00. Fin de la mission.

1. Mission à Singapour : 11 au 15 et 17 au 19 mai 2001

La mission avait pour objectifs :

1.1- Appui et suivi du travail de thèse :

- Déménagement, fonctionnement, équipement : Le déménagement du campus NTU de Bukit Timah vers Jurong a constitué une perte de temps de recherche non négligeable (plusieurs mois) mais il a également permis la mise en place de laboratoires fonctionnels et également d'équipements supplémentaires. Les serres et en particulier le niveau d'éclairage des chapelles (très grosses structures en bétons) reste un problème mais qui a été bien identifié et devrait trouver une solution (pose de lampes). Les bacs d'aéroponie dont dispose Jean Weber échappent à ce problème car ils sont disposés sur une terrasse, hors d'une chapelle. Un appareil à osmose inverse (eau purifiée) a été acheté et devrait être mis en service en juin 2001. L'attribution sur le budget MAE/CIRAD-Forêt d'une enveloppe de fonctionnement (achat de produits chimiques et consommables) de 20 KF a été attestée par NTU au cours de la mission. Quelques problèmes restaient à régler en particulier concernant le fonctionnement des bacs aéroponiques dont dispose Jean Weber : mise en place de couvercles sur les bacs, rafraîchissement de la partie inférieure de la cuve (où se trouvent les systèmes racinaires), problèmes d'alimentation et de protection électriques des pompes permettant l'aspersion de la solution nutritive (les pompes devraient avoir des alimentations ainsi que des protections électriques individuelles, afin qu'un problème électrique quelconque ne fasse disjoncter l'alimentation que d'une seule pompe à la fois).

- Cours et rapports dans le cadre du PhD NTU. L'existence d'une charge en cours et rapport dans le cadre du PhD était connue depuis la remise du dossier d'inscription à NTU. Il apparaît toutefois que cette charge est très importante et freine notablement l'avancement des travaux de recherche *sensu stricto*. Il serait nécessaire que nos partenaires singapouriens aident Jean Weber à mieux évaluer le volume de temps à consacrer à ces activités. Il faut toutefois rappeler que cette charge en enseignement est une règle à priori générale de la formule PhD et que cette règle est de plus en plus présente dans les thèses françaises, en fonction des universités (cours obligatoires, rapports d'activité périodiques).

- Travaux de recherches : Le comité de thèse du mois de juillet prochain fera un point exhaustif de l'avancement des travaux de recherche. Jean Weber participera au

prochain ICOM 3 (International Conference on Mycorrhizae) à Adelaide (Australie) et y présentera un poster : "Using alginate as a sticking agent for production of AM seedlings of *Acacia mangium* in aeroponic culture", by J. Weber, O. Crassard, S.K. Lee, F.Y. Tham, Y. Prin, P. Durand and M. Ducouso. Rappelons qu'une stagiaire de 6 mois, Mylène Vaesken, travaille sur les problèmes d'ectomycorhization d'*Acacia mangium* au LSTM de Baillarguet et que certains de ses résultats sont directement exploitables par Jean Weber.

- Rencontre avec D. Aymer de la Chevalerie, Attaché Scientifique et Technologique de l'Ambassade de France : Après évocation d'un certain nombre des points évoqués plus haut, en particulier la charge en rapports et cours du PhD, Mr Aymer de la Chevalerie insiste sur l'intérêt à mettre en place une procédure de cotutelle entre l'université Henri Poincaré de Nancy (où est inscrit Jean Weber, en France) et NTU (où il réalise son PhD). Il confirme également son intérêt pour le brevet déposé par Jean au sujet du transport des plants en sachets plastiques. Nous lui confirmons que nous avons pu vérifier l'intérêt de la méthode à l'occasion du Salon International de l'Agriculture 2001, des plants nous ayant été envoyés sous ce conditionnement par Jean Weber. Il ne semble pas toutefois que les institutions impliquées soient intéressées par ce brevet.

1.2 - préparation de la rencontre avec STA (Sarawak Timber Association) : plaquette et protocole essai terrain

Une plaquette (voir Annexes) de présentation des TQS et de leur intérêt a été rédigée et préparée en vue de la réunion à Kuching avec STA.

Un protocole d'essai terrain (voir Annexes) a également été rédigé et modifié après discussion avec J. Weber.

2. Mission à Kuching (Sarawak): 16 mai 2001

2.1- Contexte:

Dans le cadre du projet Cirad-forêt / NTU Singapour, il est prévu de mettre en place des essais de terrain destinés à tester le comportement des plants d'*Acacia mangium* produits sous système TQS (double inoculation de Rhizobium et d'Endomycorhizes des systèmes racinaires sous aéroponie).

Un premier partenaire avait été identifié: Sime Darby Malaisie, en raison de son partenariat avec NTU pour des applications industrielles de production de légumes sous aéroponie. Ce partenaire, après de longues hésitations, ayant confirmé son retrait, il était

urgent de négocier avec un partenaire privé pour la mise en place dans les meilleurs délais des essais de terrain.

Les critères de choix pour ce partenariat sont les suivants:

entreprise forestière ayant accès à des terres forestières plantables (hors réserves forestières)

bonne expérience des pratiques de plantations et bénéficiant d'infrastructures adaptées (pépinières, moyens en personnel et transport.

capacité financière de prendre éventuellement le relais pour des applications commerciales de cette technologie TQS.

Une première mission avait été effectuée par Marc Ducousso et Jean Weber en Novembre 2000, et des contacts avaient été pris avec la Sarawak Timber Association (STA), association professionnelle regroupant des producteurs de bois du Sarawak.

2.2- Déroulement de la mission

Rencontre avec Barney Chan, Directeur de la STA et exposé du projet, par Yves Prin et Jean Weber.

Présentation du protocole d'essais de terrain

Discussion sur les modalités contractuelles et de partenariat entre le Cirad-forêt et NTU, et sur la place de un ou plusieurs membres de la STA pour les essais de terrain.

2.3- Points saillants de la discussion

La STA exprime son intérêt pour ce projet, compte tenu des besoins importants du Sarawak en reboisement (non seulement en *Acacia mangium* mais aussi en *Acacia* hybrides et d'autres essences, à croissance rapide ou de bois d'oeuvre, (en particulier des espèces endémiques).

La STA souhaite participer aux essais à condition qu'un certain nombre de ses membres (2 à 3) puissent avoir accès à la technologie, dans des conditions à définir. Ce point crucial doit être discuté avec NTU.

Il a été proposé, sous réserve de l'accord de principe de NTU, que dans une première phase, le Cirad-forêt / NTU mettent en place des essais selon le protocole présenté à STA. Cette phase initiale pourrait être considérée comme une étude de faisabilité technique,

nécessaire aux membres de STA intéressés. Le problème des règles de quarantaine en vigueur au Sarawak et à Singapour pour le transport des plants depuis Singapour est à étudier en détail par NTU et STA. Ce problème de quarantaine a d'ailleurs été présenté par B. Chan comme un argument pour produire les plants sous aéroponie, directement à sarawak et non à Singapour

Dans une phase ultérieure (phase 2), possibilité de mise en place, sous réserve de l'accord de NTU, d'un ensemble de systèmes d'aéroponie au Sarawak, à la charge du partenaire, mais sous contrôle des trois partenaires: NTU, Cirad-forêt , STA. Les essais seraient alors effectués dans les conditions exactement identiques à celles de la phase préliminaire.

Dernière phase: libre accès par les membres de la STA ayany participé aux essais de la phase 2, après négociation entre les parties des conditions financières (cession de la technologie, royalties) et des aspects de propriétés intellectuelles et de partenariat commercial (prise de participation, accès aux essais, recherche d'accompagnement, etc.)

2.4- Recommandations

Il semble donc nécessaire et urgent d'analyser les aspects juridiques, de propriétés intellectuelles et de collaboration scientifique, de l'accord de recherche développement signé entre le Cirad-forêt et NTU de manière à pouvoir négocier un partenariat avec STA, de négocier avec NTU, les conditions d'application et de mise en oeuvre (propriétés intellectuelles, calendrier) des diverses phases proposées pour les essais de terrain.

d'entreprendre dès que possible les discussions avec STA et les membres souhaitant collaborer avec le Cirad-forêt / NTU, de manière à définir les modalités contractuelles et de partenariat pour les essais de terrain et les applications à l'échelle pilote puis commerciale de la technologie TQS, au cas où celle-ci se sera avérée opérationnelle.

ANNEXES

Testing *Acacia mangium* field growth performance with saplings raised in aeroponic culture and classical nursery

Preliminary Note

Since 1996, the Nanyang Institute of Education/ Nanyang Technology University (NIE/NTU) of Singapore and CIRAD-Forêt, a French research institute, are undertaking collaborative research to develop a new method for aeroponically raised *Acacia mangium* saplings inoculated with selected natural symbiotic partners. This new method has been called the Total Quality Sapling (TQS) concept. Several trials carried out in laboratory and green house condition as well as at the botanical garden of Singapore brought to evidence several advantages of this new concept. We are now seeking for collaboration with a forest company familiar with *Acacia mangium* planting practices for scaling up the test to field conditions.

What are *Acacia mangium* TQS?

They are the result of the combination of two technologies :

- 1- a mode of plantlets raising in a mist of plant culture medium ("aeroponics")
- 2- the inoculation of eventually clonal *A. mangium* with selected strains of its native microbial partners (bacteria and fungi).

1- Aeroponic culture

Aeroponics is the cultivation of whole plants with their roots fed by an air/water nutrient mist. This method has proved to enhance growth, mycorrhizal infection and nodulation of *Acacia mangium*. Preliminary trails showed that bare-root plantlets (Fig 2) from aeroponics can easily be stored , transported (Fig 6) and directly transferred to the soil (Tab1). Aeroponic culture has already been scaled up for industrial lettuce production in Singapore and Malaysia by Sime Darby.

2- Symbiotic associations :

In its native area (Australia and Papua New Guinea) *A. mangium* is symbiotically associated with three different types of microorganisms :

- Bradyrhizobium, a bacterium that transforms atmospheric nitrogen into ammonium available to the plant. In exchange the plant provide the bacteria with carbohydrates from the photosynthesis. The bacterium is hosted within nodules that develop on the root system (Fig. 3).
- Endomycorrhizal fungi, that infect the root system, penetrating plant root cells and facilitating mineral and water nutrition of the plant (Fig 4).
- Ectomycorrhizal fungi, that remain intercellular within the root and also help mineral nutrition of the plant. Their use in aeroponics is not totally mastered at the moment.

Advantages of TQS

- **Saplings are produced without any substrate, free of parasites :**
 - Less or no chemical treatments,
 - No weeding
 - No soil handling
- **Root systems remain totally and continuously visible**
 - Control of microbial inoculation
 - Following-up of cuttings success (when using clonal material, hybrids,...)
- **Adjustability of culture medium composition allow to optimise the plant growth**
 - Shortening of nursery period.
 - Flexibility of the nursery production planning through adaptation of the nutrient composition
- **Production of bare-root plants**
 - Easiness of transportation, even on long distances (by plane, car,...)
 - Low mortality (see Tab 2)
- **Saplings inoculated with their microbial partners**
 - Better growth performance without extra fertilization
 - Easy one-step inoculation
 - Better adaptability to transfer to degraded soils



Fig 1. Aeroponic trough with *Acacia mangium*.



Fig 2. Aspect of TQS at the time of field transfer



Fig 3. Bradyrhizobium nodulation of the root system

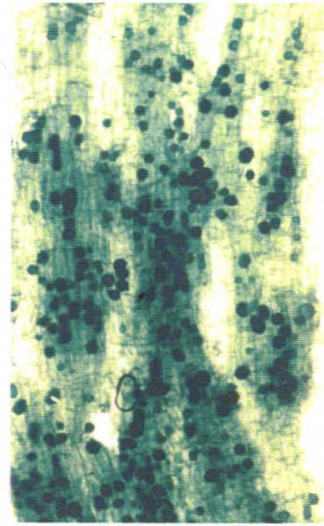


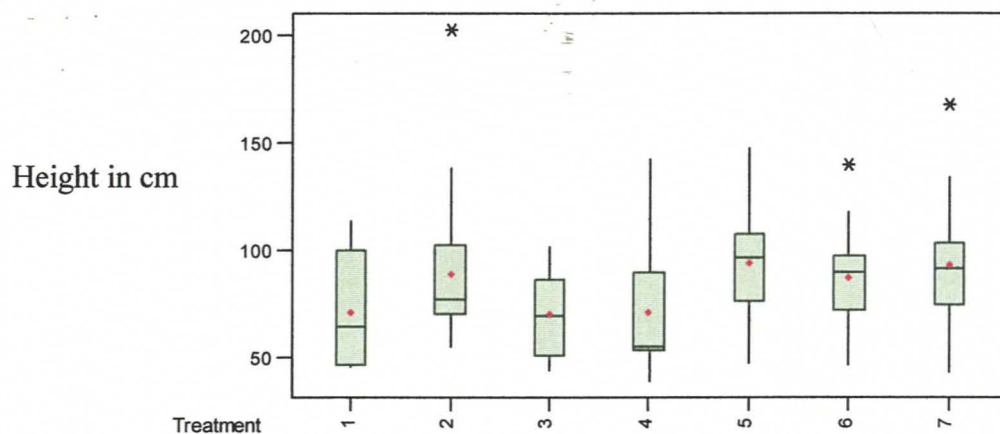
Fig 5. Endomycorrhizal infection.



Fig 6. 30 ready-to-transfer *Acacia mangium* saplings raised in aeroponics (left) and in classical nursery (right). The weight and fragility is much more is much higher with the latter than with TQS.

Tab 1 : Bare-root seedlings of *Acacia mangium* have been produced in aeroponics, a soil-free plant culture method. The following parameters have been tested : - direct transfer to the field, - root coating with peat- packaging and storage for six and four days in both dark and shady conditions, - a two-week acclimatization in polybags. Two months after transfer to the field the survival rate was up to 95% with no significant differences between treatments ($P=0.05$) except for the 6-day-dark storage treatment for survival was significantly lower. This experiment shows that packaging of the plants and different storage conditions can be applied to bare-root saplings from aeroponics.

Height of bare-root *Acacia mangium* samplings seven month after their transfer to the botanical garden of Singapore.



Treatments:

- 1, plants stored 6 day in dark conditions;
- 2, plant stored 6 days in shady conditions;
- 3, plants stored 4 days in dark conditions;
- 4, plants stored 4 days in shady conditions;
- 5, plants directly transferred from the aeroponics to the field (control) ;
- 6, plants acclimatized in polybags;
- 7, Plants with a root-coating treatment.

Field trial to be set up in Sarawak

Comparison of field growth responses between *Acacia mangium* saplings raised under aeroponics and conventional nursery conditions

OBJECTIVES

The aim of this experiment is to compare the growth response of *Acacia mangium* saplings originating from the same seedlot, under two different nursery conditions: standard nursery condition as usually practiced in industrial forestry and the other using aeroponically raised saplings.

MATERIAL

Plant material : *Acacia mangium*, seedlot N°

Microbial material :

- *Bradyrhizobium* strain Aust13c
- Endomycorrhizal strain S042 of *Glomus intraradices*

Treatments : Three different treatments will be tested :

- ◆ **Treatment 1 :** Saplings raised according to usual forest nursery practices. Plants will not be artificially inoculated but spontaneously nodulated and mycorrhized by local strains. This nodulation and mycorrhization will be estimated on 10 randomly selected plants at the end of the nursery period. It is not the aim of this experiment to test inoculation in classical nurseries.
- ◆ **Treatment 2 :** Saplings raised in aeroponics without any inoculation.
- ◆ **Treatment 3 :** Saplings raised in aeroponics and inoculated with *Bradyrhizobium* Aust13c, for nodulation and nitrogen fixation.
- ◆ **Treatment 4 :** Saplings raised in aeroponics and inoculated with *Bradyrhizobium* Aust13c plus *Glomus intraradices* for nodulation, nitrogen fixation and general mineral nutrition.

Field site (see Fig 1a) : The field area has to be 0.5 ha, with 12 different 12x12m plots (3 plots for each treatment). Plots will be separated by 6 m rows. The land will be prepared according to usual methods.

METHODS

- Treatment 1: Classical nursery conditions :

- The saplings will be raised from the same time and the same seedlot as in aeroponics, typically in plastic polybags filled with the usual non-sterilized substrate (local river sand,...), and will receive all the different pesticides and fertilizers treatments they used to receive in industrial nurseries.
- All the chemical or human implications on the saplings raising will be inventoried and estimated in terms of manpower.

- At the time the saplings reach 30 cm in height, they will be transferred to the field. About 250 saplings will be produced. At the end of the nursery stage (time of field transfer), 5 randomly harvested saplings will be collected for laboratory determinations : growth responses and symbiotic status. 75 saplings will be transferred to the field in 3 different plots, including 25 (5x5) plants each separated by 3 m (10 feet) rows (see fig 1b). Height of the 75 saplings will be measured immediately after transplanting.
- **Treatment 2 : Aeroponical nursery conditions, without any inoculation:**
 - In this treatment, about 90 saplings will be raised from the same seedlot as in classical nursery
 - Transportation from NTU Campus in Singapore to the plantation site will be made in plastic bags by Jean Weber. The period of time between aeroponics and field plantation will be as shortened as possible.
 - At the end of aeroponics (time of field transfer), 10 randomly harvested saplings will be kept for laboratory determinations : growth responses and symbiotic status. 75 saplings will be transferred to the field in 3 different plots, with each 25 (5x5) plants, separated by 3 m (10 feet) rows (see fig 1b). Height of the 75 saplings will be measured immediately after transplanting.
- **Treatment 3 : Aeroponical nursery conditions , Aust13c inoculated saplings :**
 - In this treatment saplings will be inoculated with *Bradyrhizobium*. About 90 saplings will be raised from the same seedlot as in classical nursery.
 - Transportation from NTU Campus in Singapore to the plantation site will be made in plastic bags by Jean Weber. The period of time between aeroponics and field plantation will be as shortened as possible.
 - At the end of aeroponics (time of field transfer), 10 randomly harvested saplings will be kept for laboratory determinations : growth responses and symbiotic status. 75 saplings will be transferred to the field in 3 different plots, with each 25 (5x5) plants, separated by 3 m (10 feet) rows (see fig 1b). Height of the 75 saplings will be measured immediately after transplanting.

Treatment 4 : Aeroponical nursery conditions , Aust13 + Glomus inoculated saplings :

- In this treatment saplings will be inoculated with *Bradyrhizobium Aust13c + Glomus intraradices*. About 90 saplings will be raised from the same seedlot as in classical nursery.
- At the time the saplings reach 30 cm in height in one of treatments 2 or 3, both treatments will be transferred to the field. Transportation from NTU Campus in Singapore to the plantation site will be made in plastic bags by Jean Weber. The period of time between aeroponics and field plantation will be as shortened as possible.
- At the end of aeroponics (time of field transfer), 10 randomly harvested saplings will be kept for laboratory determinations : growth responses and symbiotic status. 75 saplings will be transferred to the field in 3 different plantation plots, with each 25 (5x5) plants, separated by 3 m (10 feet) rows (see fig 1b). Height of the 75 saplings will be measured immediately after transplanting.

- **General following up of the field trial :**

- a) **Fertilizers :**
No fertilizers will be applied after field transfer
- b) **Weeding :**
No chemical treatment will be used
- c) **Phytosanitary treatments :**
No chemical treatment will be used
- d) **Growth measurements :**
The following parameters will be estimated every 6 month following field transfer, on each tree :
 - survival
 - tree height
 - stem number
 - diameter at 1.30 m
- e) **Soil analyses :** before plantation soil samples from 6 different places in the field site will be collected (each about 0.5 kg) and kept in plastic bags at 4°C until analyses.

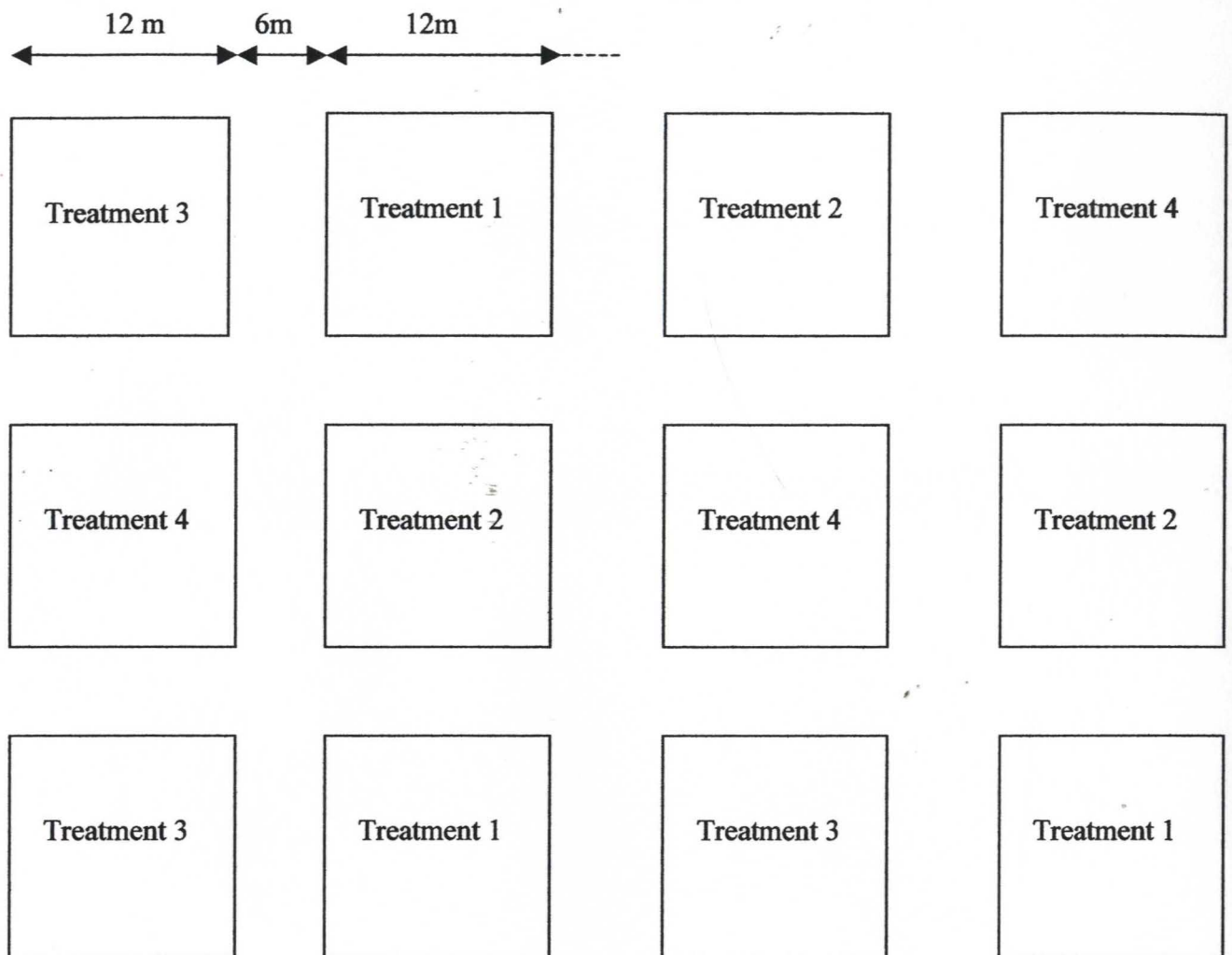


Fig 1a : Field trial design.

X	X	X	X	X		X	X	...
X	X	X	X	X		X	X	...
		Treatment 2					Treatment 3	
X	X	X	X	X		X	X	...
X	X	X	X	X		X	X	...
X	X	X	X	X		X	X	...
X	X	X	X	X		X	X	...
X	X	X	X	X		X	X	...

Fig 1b : one of Treatment 2 experimental plots : 5x5 trees with 3 m intervals.